Н. Глеб

1971

Aus der Frauenklinik der Universität des Saarlandes
Homburg/Saar (Direktor: Professor Dr. med. H. LIMBURG)

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE TERATOGENE WIRKUNG VON PREDNISOLON UND PODOPHYLLOTOXIN

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1971

vorgelegt von
Hermann Steeb
geb. am 2.5.1943 in Schwäbisch Gmünd

DEKAN: Professor Dr. med. H. KULENKAMPFF
REFERENT: Privatdozent Dr. U. HECKMANN

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Prüfung wurde am 3o.1o.1971 abgelegt.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	TERATOGENESE UND TERATOLOGIE	3
III.	MATERIAL UND METHODE	4
IV.	ERGEBNISSE	18
V.	DISKUSSION	34
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	4o
VII.	LITERATUR	42

I. EINLEITUNG

Nach Aufklärung der Thalidomid-Embryopathie war kein merklicher Rückgang des Medikamentenabusus in der Schwangerschaft festzustellen. Neuere Beobachtungen zeigen hingegen, daß die kurzzeitig rückläufige Einnahme von Sedativa und Analgetica in der Schwangerschaft nach Wiederberuhigung der öffentlichen Meinung in den darauffolgenden Jahren erneut sprunghaft zunahm (33). Die Entdeckung der Thalidomidgenese für das Dysmelie-Syndrom im Jahre 1961 hat bewiesen, daß durch die bisher üblichen Toxizitätskontrollen das Risiko einer teratogenen Aktivität in Zukunft nicht vollkommen auszuschließen ist (23, 46, 47).

Nach den jetzigen Erfahrungen liegt die Hauptschwierigkeit des teratologischen Tierexperiments in den großen art- und rassenspezifischen Unterschieden, die noch durch Umweltfaktoren beeinflußt werden können.

Zur Verfeinerung der Methoden und damit erhöhter Beweiskraft des Experimentes wurde in letzter Zeit neben systematischen Generationsversuchen an wechselnden Tierspezies eine gleichzeitige Kontrolle der histologischen Organbefunde vorgeschlagen (31).

Außerhalb des Fetallebens ist der mitosehemmende Effekt zytostatischer Substanzen besonders ausgeprägt bei Organen mit hoher Zellproliferationsrate. Demzufolge wäre eine entsprechende Beeinträchtigung des rasch proliferierenden fetalen Keimgewebes durch solche Substanzen zu erwarten (34). Da hochdosierte

Prednisolongaben im Experiment einen zytostatischen Effekt zeigen können, sollten in einem vergleichenden Versuch ein Prednisolonpräparat und ein bekanntes Podophyllotoxin auf ihre teratogenen Eigenschaften geprüft werden (14).

II. TERATOGENESE UND TERATOLOGIE

Unter Teratogenese verstehen wir eine krankhafte von der Norm abweichende Entwicklung des Keims, die zu bleibenden morphologischen Veränderungen führt (11).

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse sind die von LOOSLI und THEISS über die experimentelle Teratologie aufgestellten Prinzipien richtungweisend (31):
Die experimentelle Teratogenese ist als fetale Toxizitätsprüfung oder als sogenannte Embryo-Fetotoxizitätsprüfung anzusehen. Die toxischen Wirkungen auf den Keim laufen in ähnlicher Weise ab wie bei der Mutter lediglich mit dem Unterschied, daß der entwicklungsphysiologische Zustand des Keims und die Irreversibilität der Schädigung eine zusätzliche Rolle spielen.
Art und Ausmaß der morphologischen Veränderungen des Versuchstieres sind irrelevant.
Eine verminderte Trächtigkeitsrate oder gleichbeideutend eine erhöhte Resorptionsquote sind wie Mißbildungen anzusehen.

III. MATERIAL UND METHODE

1) Das Kortikosteroid Ultracorten - H (Prednisolon - H).

Die natürlich vorkommenden Glukokortikoide werden in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde gebildet.

a) Wirkungsmechanismus

Die Folgen einer künstlichen Zufuhr von Kortikosteroiden über längere Zeit bestehen zunächst in einer Inaktivitätsatrophie der Nebennierenrinde, da der Regelkreis zwischen Hypophysenvorderlappen und Nebennierenrinde im Sinne einer verminderten ACTH-Bildung gestört ist (19).

Die pharmakodynamischen Eigenschaften der Glukokortikoide bestehen in einer Steigerung der Glukoneogenese aus Aminosäuren, woraus ein eiweißkataboler Effekt resultiert. Auf diesem Prinzip beruhen die Störungen des Kohlehydratstoffwechsels in Form eines Steroiddiabetes. Für die Störungen des Fettstoffwechsels, wobei besonders die abnorme Fettverteilung auffällt (Vollmondgesicht, Stiernacken, Stammfettsucht) gibt es noch keine hinreichenden Erklärungen. Bei längerer Zufuhr von Kortison kann zusätzlich eine gewisse mineralokortikoide Wirkung beobachtet werden, die sich in Wasser- und Natriumretention bei erhöhter Kaliumausscheidung äußert.

Die hemmende Wirkung der Kortikoide auf das lymphoreticuläre Gewebe deutet auf deren zytostatischen Charakter hin (14). Diese äußert sich in einer Eosinopenie, Lymphopenie

und Verkleinerung der Lymphknoten sowie einer vorzeitigen Thymusinvolution bei Jugendlichen.

Daraus resultiert eine Unterbindung der Antigen-Antikörperreaktionen und der Reaktionen des mesenchymalen Systems. Klinisch findet diese Tatsache in der antiallergischen, antiphlogistischen und antirheumatischen Therapie ihre Anwendung (2).

b) Unerwünschte Wirkungen ("Nebenwirkungen")

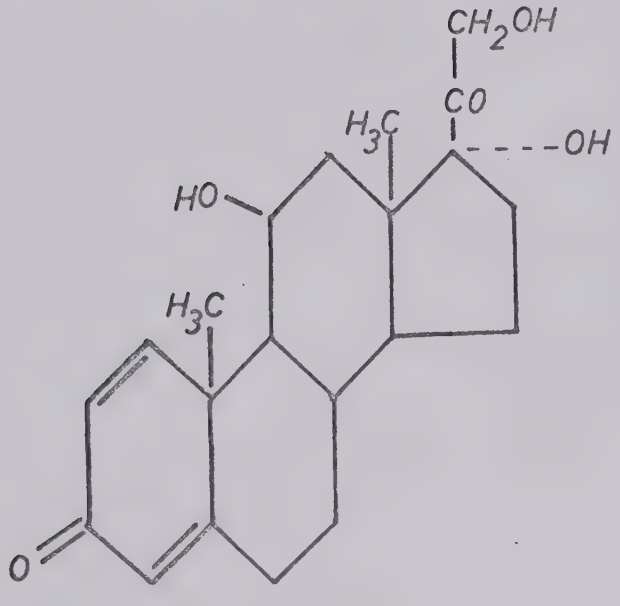
Bei klinischer Anwendung der Kortikoide können sich Nebenwirkungen besonders bei schon bestehender Diathese störend äußern:
Die Bremsung der mesenchymalen Reaktionen kann den Verlauf einer bestehenden Infektionskrankheit erheblich verschlimmern; ebenso können Ulcera im Bereich des oberen Verdauungstraktes durch die verminderte Granulationsgewebebildung exacerbieren, was wiederum auf einen gewissen zytostatischen Effekt dieser Substanz hinweist.

Die Wirkungen auf den Stoffwechsel und den Elektrolythaushalt können zur Ausbildung eines sogenannten Cushingoids führen, mit Appetit- und Gewichtszunahme, abnormer Fettverteilung, Natrium- und Wasserretention, Hypokaliämie, Hypertonie, Glukosurie und Osteoporose als wichtigste Symptome. Außerdem ist eine gewisse Euphorie, die bis zur Sucht führen kann, zu beobachten (1).

c) Therapeutische Anwendung und chemische Struktur

In der Klinik stehen die antiallergischen, antitoxischen und antiphlogistischen Indikationen im Vordergrund. Man hat deswegen versucht, Abkömmlinge des Kortisons zu synthetisieren, die möglichst wenig Nebenwirkungen besitzen. Dabei gelangte man vom Hydrocortison durch Einführen einer Doppelbindung im Ring A zum Prednisolon, welches eine viermal stärkere antiphlogistische Wirkung entfaltet. Diese Prednisolonstruktur liegt auch dem verwandten Präparat Ultracorten - H zugrunde.

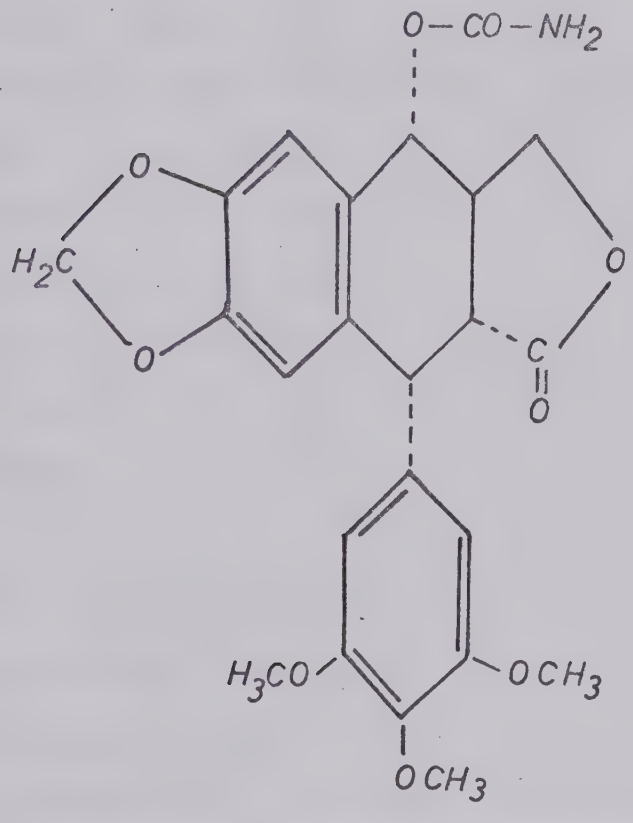
Prednisolon:



2) Das Cytostaticum VB 74

Cytostatica sind Stoffe, die die Entwicklung und Vermehrung von schnellwachsenden Zellen hemmen.
VB 74 gehört chemisch zu den Podophyllotoxinderivaten, genauer gesagt ist es ein Karbamoyl-Podophyllotoxin mit der Strukturformel:

Carbamoyl -podophyllotoxin



Nach Untersuchungen von CERLETTI et al. ist es, wie Proresid, ein Spindelgift und blockiert die Mitose in der Metaphase(45). Seine pharmakodynamischen Eigenschaften wurden

in vitro und in vivo an verschiedenartigen Tumoren überprüft (5). Über die klinische Anwendung als Cytostaticum liegen keine endgültigen Ergebnisse vor.

3) Merkmale, Haltung und Ernährung der Versuchstiere

a) Als Versuchstier diente die Ratte, weil sie sich in mehrfacher Hinsicht für teratologische und embryotoxische Experimente gut eignet (32).

a) Ihre Schwangerschaftsdauer beträgt 21 bis 23 Tage, man erhält also schnell seine Versuchsergebnisse.

b) Östrus und Befruchtungstermin lassen sich einfach und schnell feststellen.

c) Durch die Konstanz der Neugeborenengröße kann man morphologische Abweichungen von der Norm relativ einfach feststellen.

b) Zur Erzielung vergleichbarer Ergebnisse ist es nötig, daß die verwendeten Tiere einem genetisch bekannten, homologen Stamm angehören. Diese Vorbedingungen wurden durch Bruder-Schwesterninzucht von Albinoratten des Wistarstammes erfüllt (8). Der von uns benutzte Stamm BD II hat folgende Erbformel:

cc PPbaa hh

c - Chromogenfaktor, sein Fehlen bedingt die Albinofärbung des Felles.

a - Wildfarbenfaktor, notwendig für gelbes und schwarzes Pigment der Haare.

h - Haubenscheckungsfaktor

P - Unterdrückungsfaktor für dunkles Pigment.

c) Die Tiere wurden mit der von BROCK u. Mitarb. vorgeschlagenen Altromindiät ernährt (3). Für eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr wurde gesorgt; es wurde Leitungswasser gegeben.

d) Die Versuchstiere waren in Einzelkäfigen untergebracht. Temperatur und Luftfeuchtigkeit wurden durch ständige Kontrollen auf optimalen Werten gehalten.

4) Anzahl der Versuchstiere

Im ganzen wurden 235 weibliche Tiere mit einem mittleren Gewicht von 27o g benutzt. Die Anzahl verteilt sich auf 2o Kontrolltiere, 25 Versuchstiere für den Toxizitätsversuch von Ultracorten - H, 2o Tiere für den Toxizitätsversuch von VB 74, 8o Tiere für den Teratogeneseversuch von Ultracorten - H, 8o Tiere für den Teratogeneseversuch von VB 74 und 1o Tiere für einen bei den Ergebnissen näher zu begründenden Toxizitätsversuch mit Ultracorten - H (s. Tabelle).

Tabelle: Übersicht über das verwendete Tiermaterial

Anzahl der Tiere	Ultracorten - H mg/kg		Anzahl der Tiere	VB 74 mg/kg
1o	-	Kontrolle	1o	-
5	1,68		5	15,o
5	o,8o		5	6,o
5	o,336	Toxizität	5	4,o
5	o,168		5	2,o
1o	1,2		-	-
5	o,o168		-	-
2o	o,336		5	2,o
4o	o,8	Teratogenese	1o	1,8
2o	1,2		65	1,5
125		Summe	11o	

5) Versuchsanordnung

a) Kontrollversuch, Toxizitätsprüfung und Östrusbestimmung.

Zunächst wurden 2o etwa gleichaltrige und gleich schwere, unbehandelte Weibchen und ebenso viele Männchen in Einzelkäfige zusammengesetzt. Dieser Vorversuch diente zur Orientierung über die mittlere Schwangerschaftsdauer, maximale und minimale Wurfzahl, mittlere Wurfgröße, maximale und minimale Resorptionsgröße, maximales und minimales Geburtsgewicht der Jungen und Gewichtsveränderungen der Weibchen während der Gravidität.

Anschließend wurden an nicht schwangeren weiblichen Tieren Toxizitätsversuche vorgenommen. Beide Medikamente wurden in den angegebenen Dosierungen täglich intraperitoneal injiziert: Ultracorten - H wurde in 5 verschiedenen Dosierungen an jeweils 5 Tiere über 1o Tage verabreicht. Dabei sah der erste Versuch eine Dosis von 1,68 mg/kg vor. Im zweiten Toxizitätsversuch gelangte eine Dosis von o,8 mg/kg zur Anwendung. Drei weitere Versuche wurden mit 1/5, 1/1o und 1/1oo der Ausgangsdosis, also mit o,336 mg/kg, o,168 mg/kg und o,o168 mg/kg durchgeführt. Erst nach Beendigung der Teratogeneseversuche wurde noch ein Toxizitätsversuch mit 1,2 mg/kg durchgeführt.

VB 74 wurde ebenfalls an Gruppen von 5 Tieren in fünf verschiedenen Dosen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen

getestet. Verwendet wurden Konzentrationen von 15, 1o, 6, 4 und 2 mg/kg. Zu diesem Versuch wurden nur weibliche, nicht schwangere Tiere verwendet, da diese nach bisheriger Beobachtung eine höhere Sensibilität gegenüber dem Präparat aufweisen als männliche (45).

Um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen, war es notwendig, daß allen Tieren in zeitlich übereinstimmenden Schwangerschaftsphasen die Testsubstanzen gegeben wurde. Dies wurde ermöglicht durch Bestimmung des Östrus in Vaginalabstrichen. Zur Abnahme wurden kleine Watteträger verwendet. Die damit angefertigten cytologischen Ausstriche wurden kurz hitzefixiert und mit wässeriger Methylenblaulösung schwach angefärbt, so daß Kerne und Cytoplasma gut voneinander zu unterscheiden waren. In der nachstehenden Tabelle ist eine Übersicht über den normalen Genitalcyclus der Ratte enthalten (3o).

Tabelle: Östruszyklus der Ratte (n. LONG und EVANS (3o)).

Stadium	Oberfl. Genitalien	Vaginal-abstrich	Ovar	Dauer	Bemerkungen
I.	Lippen leicht geschwollen	nur Epithelzellen	Ovarienwachstum, Follikelausdehnung	etwa 12 Stunden	Hitze kann vorkommen
II.	Lippen geschwollen	nur Hornzellen (Schollen)	große Follikel, Eireifung	etwa 12 Stunden	Hitze, Kopulation
III.	Lippen noch geschwollen, Rückbildung, käsige Masse in Vagina	nur Hornzellen (Schollen)	Ovulation	etwa 15 bis 18 Stunden	keine Hitze mehr
IV.	keine Schwellung, Mucosa feucht	Hornschollen und Leukozyten	Eier im Eileiter	etwa 6 Stunden	-
V.	keine Schwellung, Mucosa feucht	Leukozyten und Epithelzellen	Gelbkörper gebildet	etwa 57 bis 6o Stunden	Ruhestadium

6) Teratogeneseversuch mit Ultracorten - H

Aus einem größeren Kontingent gleichgroßer weiblicher Tiere wurden 2o herausgenommen, bei denen im Vaginalabstrich gerade das Vorliegen eines Östrus bestimmt werden konnte. Diese Tiere wurden sofort mit Männchen in Einzelkäfigen zusammengesetzt. Nach 2 Tagen wurden die Männchen herausgenommen und mit der intraperitonealen Behandlung der weiblichen Versuchstiere begonnen. Die Behandlungsdauer erstreckte sich über 1o aufeinanderfolgende Tage. Die erste Gruppe von 2o Tieren wurde ab dem dritten Schwangerschaftstag mit o,336 mg/kg behandelt. Eine zweite Gruppe von 4o Tieren erhielt eine tägliche Dosis von o,8 mg/kg über denselben Zeitraum. Bei 2o schwangeren Tieren kam unter gleichbleibenden zeitlichen Versuchsbedingungen eine Dosis von 1,2 mg/kg zur Anwendung. Die Bestimmung des Gewichtes der trächtigen Tiere erfolgte vor und nach der Behandlungszeit sowie 2 bis 3 Tage vor der Geburt der Jungen. Nach der Geburt wurden die Jungen gewogen, seziert und auf morphologische Mißbildungen geprüft. Histologisch wurden folgende Organe untersucht: Leber, Nieren, Hoden und Ovarien. Im einzelnen wurde dabei wie folgt vorgegangen: Das Abdomen wurde durch einen Medialschnitt eröffnet. Das Einbringen von einigen Tropfen Bouinscher Lösung in die Bauchhöhle ermöglichte ein leichteres Auffinden der kleinen Organe. Danach wurden die obengenannten Organe herauspräpariert. Die Fixierung und Einbettung erfolgte nach den Standardmethoden der histologischen Technik. Die mikroskopisch dünnen Schnitte wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt. Anschließend wurde mit dem Durchlichtmikro-

skop bei kleiner und mittlerer Vergrößerung nach Veränderungen des feingeweblichen Aufbaues gesucht.

Wenige Stunden nach der Geburt wurden die Muttertiere getötet, das Abdomen eröffnet, die Uteri herausgenommen und die Implantationsstellen ausgezählt. Zur leichteren Sichtbarmachung wurden die Implantationsstellen nach folgender Methode gefärbt:

1) 5 bis 7 Minuten lang wurden die Uteri in 1o %ige Ammoniumsulfidlösung eingebracht. Dabei fällt das an den Implantationsstellen vorhandene Eisen als schwarzes Sulfid aus, so daß eine deutliche Markierung vorhanden ist.
2) Nach Abspülen unter Leitungswasser erfolgte das Einbringen der Uteri für 1o bis 15 Minuten in eine Lösung, die zu gleichen Teilen aus einer 1 %igen HCL- und einer 2o %igen Kaliumferrocyanidlösung bestand. Bei diesem Vorgang wird das bereits ausgefällte Eisen in Berlinerblau beziehungsweise Turnbullblau übergeführt (24). Diese zweite zusätzliche Färbung war bei den Tieren nötig, deren Wurf erst nach einer 3otägigen Beobachtungszeit aufgearbeitet wurde.

7) Teratogeneseversuch mit VB 74 (SANDOZ)

In ähnlicher Weise wie bei der Prüfung der embryotoxischen Wirkung der Kortikoide wurde die Versuchsanordnung für VB 74 festgelegt.

Nach Östrusbestimmungen der weiblichen Tiere wurde die Paarung 2 Tage lang mit männlichen Tieren in Einzelkäfigen vorgenommen. Am 1o. Schwangerschaftstag wurde mit der Behandlung der Versuchstiere begonnen. Die Testsubstanz wurde stets intraperitoneal 5 Tage lang verabfolgt. Am Beginn der Schwangerschaft vor und nach der Therapie und kurz vor der Geburt führten wir Wägungen der Muttertiere durch.

Bei 3o schwangeren Tieren wurde eine Dosis von 1,5 mg/kg VB 74 über 5 Tage angewendet. Die Jungen wurden sofort nach der Geburt getötet und histologische Proben entnommen nach genauer Inspektion der makroskopischen Verhältnisse. Zur histologischen Untersuchung gelangten die Organe: Leber, Niere und Gonaden. Das Einbettungs- und Fixationsverfahren erfolgte nach den allgemein bekannten und gebräuchlichen Methoden. Die Schnitte wurden mit Hämalaun-Eosin gefärbt. Die zugehörigen Muttertiere wurden getötet, die Implantationsstellen mit Ammoniumsulfidlösung angefärbt und ausgezählt (24). Um eine größere Aussagekraft zu erzielen wurden Zwischenversuche mit jeweils 5 Tieren bei einer Dosis 2,o und 1,8 mg/kg VB 74 durchgeführt. Die Applikationsart, die Dauer und Auswertung entsprach in diesem Falle genau dem vorangegangenen Versuch.

Bei 5 trächtigen Tieren wurde mit der Behandlung schon am 3. Schwangerschaftstag begonnen. Die Dosis betrug 1,5 mg/kg über 5 Tage.

Die Jungen von 3o Muttertieren wurden über einen Zeitraum von 3o Tagen beobachtet und dann erst histologisch auf Veränderungen untersucht. Die Muttertiere wurden zu diesem Zeitpunkt ebenfalls getötet, um die Implantationsstellen auszuzählen.

IV. ERGEBNISSE

1) Kontrollversuch

Bei dem vorausgehenden Kontrollversuch mit 2o weiblichen Tieren ließ sich eine mittlere Gewichtszunahme von 1o5 g bis zum Ende der Schwangerschaft feststellen. Die mittlere Wurfgröße betrug 12,15 Junge pro Tier. Die maximale Wurfgröße lag bei 16, die minimale Wurfgröße bei 8 Neugeborenen pro Muttertier. Die neugeborenen Ratten wogen im Durchschnitt 5,9 g. Bei diesen 2o Muttertieren wurde die mittlere Größe der Implantationsstellen mit 13,75 pro Tier errechnet. Als Maximum gelangten bei diesem Versuch 16 Implantationsstellen als Minimum 11 Implantationsstellen zur Beobachtung.

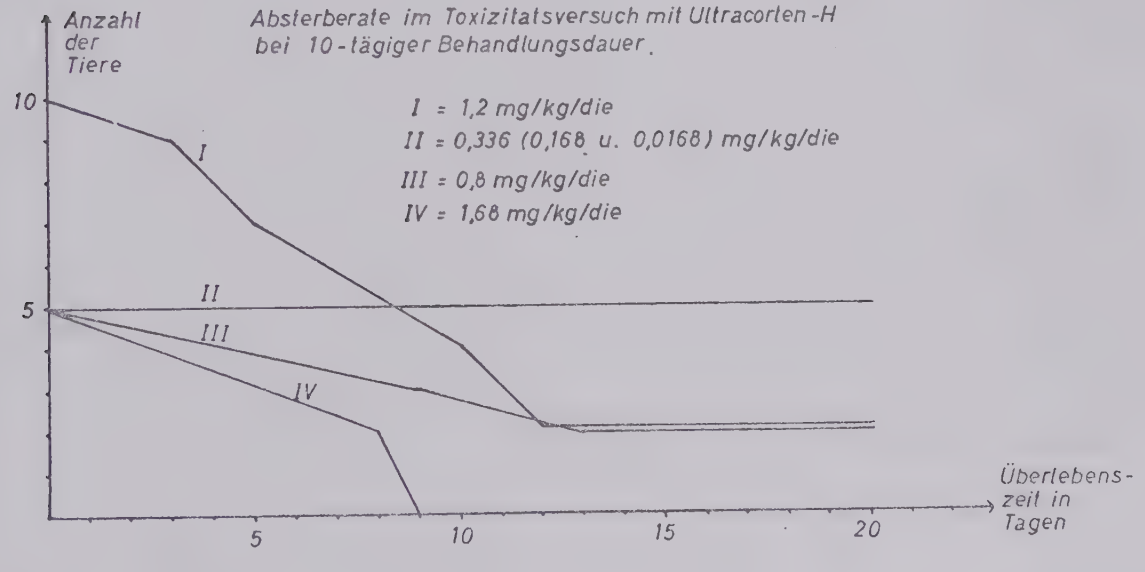
2) Toxizitätsversuch mit Ultracorten - H

In einem orientierenden Versuch mit einer Dosis von 1,68 mg/kg, die über 1o Tage intraperitoneal verabreicht werden sollte, starben 3 Tiere am 8. Tag der Behandlung und am darauffolgenden Tag die restlichen 2 Tiere.

Im nächsten Versuch mit o,8 mg/kg, also etwa der Hälfte der Ausgangsdosis verendeten 2 Tiere am 9. Tag und 1 Tier am 13. Tag nach Behandlungsbeginn. Zwei Tiere überlebten den Versuch, zeigten allerdings noch eine Woche nach Absetzen der Ultracorten - H Medikation erhebliche Benommenheit und Rigidität im Bewegungsablauf.

Der nun folgende Versuch mit o,336 mg/kg über 1o Tage zeigte, außer einer kurzdauernden Verminderung der Vitalität, keine Besonderheiten. Alle 5 Tiere überlebten. Weitere Toxizitätsversuche mit o,168 mg/kg und o,o168 mg/kg wiesen keine toxischen Wirkungen des Präparates auf.

Nach Abschluß der eigentlichen Teratogeneseversuche wurde noch ein Toxizitätsversuch mit 1,2 mg/kg Ultracorten - H an 1o weiblichen nicht schwangeren Tieren über 1o Tage durchgeführt. Dabei starben am 3. Tag nach Behandlungsbeginn 1 Tier, am 5. Tag 2 Tiere, am 1o. Tag 3 Tiere und am 12. Tag 2 Tiere. Nur 2 Tiere überlebten den Versuch.



3) Teratogeneseversuch mit Ultracorten - H

Mit der zuvor ermittelten subtoxischen Dosis von o,336 mg wurden 2o schwangere Tiere ab dem 3. Schwangerschaftstag bis zum 13. Schwangerschaftstag behandelt. Die mittlere Gewichtszunahme der Muttertiere bis kurz vor dem Wurf betrug 97,o g. Die mittlere Wurfgröße lag bei 9,1 Jungen pro Tier. Das zugehörige Maximum betrug 14 Junge pro Tier. 4 Tiere hatten überhaupt keine Jungen. Die Implantationsstellen beliefen sich im Mittel auf 13,4 pro Tier. Der maximale Wert betrug 18 Implantationsstellen. Der untere Wert lag bei 9 Implantationsstellen pro Tier. Das mittlere Geburtsgewicht der Jungen war 5,23 g.

Im nächsten Versuch wurde eine Dosis von o,8 mg Ultracorten - H über 1o Tage angewandt, also die durch den Toxizitätsversuch in etwa festgelegte DL 5o. Es wurde ebenfalls am 3. Schwangerschaftstag mit der Therapie begonnen. Dieser Versuch wurde mit 4o Tieren durchgeführt. Die mittlere Wurfgröße konnte in diesem Versuch mit 8,9 Tieren angegeben werden. 8 Tiere hatten überhaupt keine Jungen, 1 Tier hatte 16 Jungen. Bei dieser Konzentration traten maximal 18 Implantationsstellen und minimal 8 Implantationsstellen auf. Das Mittel der Implantationsstellen konnte mit 13,1 pro Tier errechnet werden. Die Muttertiere nahmen im Schnitt um 88 g bis kurz vor der Geburt der Jungen zu. Die Neugeborenen wogen durchschnittlich 5,4 g.

Da die Letalität der Muttertiere bei weitem unter der im Toxizitätsversuch festgelegten Grenze lag, wurde noch ein zusätzlicher Versuch mit 1,2 mg Ultracorten - H über 1o Tage, beginnend am 3. Schwangerschaftstag, angesetzt. Die mittlere Wurfrate ließ sich dabei auf 5,o5 Junge pro Tier bestimmen. 8 von den 2o Versuchstieren hatten dabei keine Jungen. 1 Tier hatte mit 12 Tieren die höchste Wurfrate erreicht. Die Zahl der Implantationsstellen lag im Schnitt bei 11,6 pro Tier; der Maximalwert war 15, der Minimalwert 9 Implantationsstellen. Bis kurz vor der Geburt ließ sich eine Gewichtszunahme der Muttertiere um durchschnittlich 75 g feststellen. Die Jungen wogen im Schnitt 5,1 g.

Das Ergebnis dieses letzten Versuches mit 1,2 mg Ultracorten - H und das Ergebnis des Toxizitätsversuches mit o,336 mg Ultracorten - H berechtigt zu der Annahme, daß die Kortikoidtoleranz in der Schwangerschaft etwa 3,5 mal höher ist als unter normalen Lebensbedingungen. Errechnet wurde dieser Wert aus dem Toxizitätsfaktor der subtoxischen Dosen von

$$\frac{\text{schwangerer}}{\text{nichtschwangerer}} \quad \text{Ratte} = \frac{1{,}2oo}{o{,}336} = 3{,}5$$

Tabelle: Ergebnisse des Teratogeneseversuches mit Ultracorten - H (Mittelwerte)

	Kontrolle	Konzentrationen in mg/kg		
		0,336	0,8	1,2
Gewichtszunahme der Muttertiere	1o5 g	97 g	88 g	75 g
Geburtsgewichte der Jungen	5,9 g	5,23 g	5,4 g	5,1 g
Wurfgröße	12,15	9,1	8,9	5,o5
Zahl der Implantationen	13,75	13,4	13,1	11,6

4) Histologie (Ultracorten - H)

Die feingeweblichen Untersuchungen von Leber, Niere und Gonaden der Neugeborenen zeigten im zellulären und strukturellen Bild keine Abweichungen von den Kontrollschnitten.

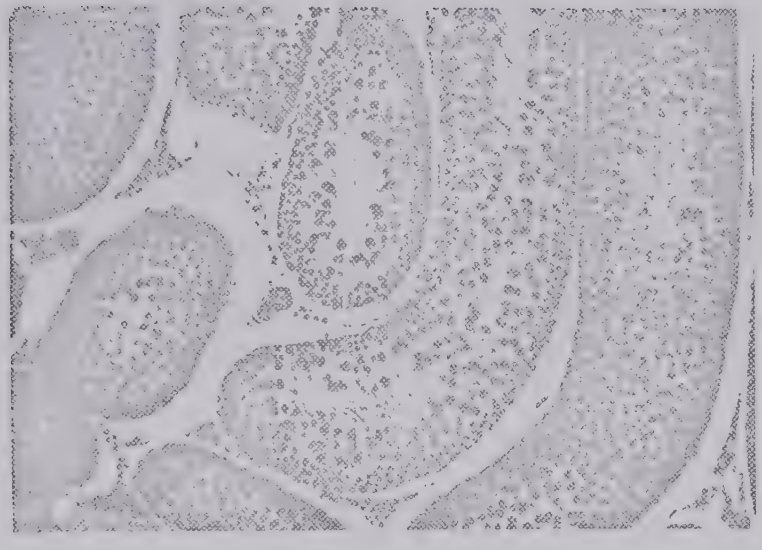


Abb.:

Hoden einer neugeborenen Ratte nach Behandlung mit Ultracorten - H mit einer Konzentration von 1,2 mg/kg. Unauffällige Tubuli mit regelhafter Epithelauskleidung.
HE - Färbung, Vergrößerung 6,3 x 2 x 8.

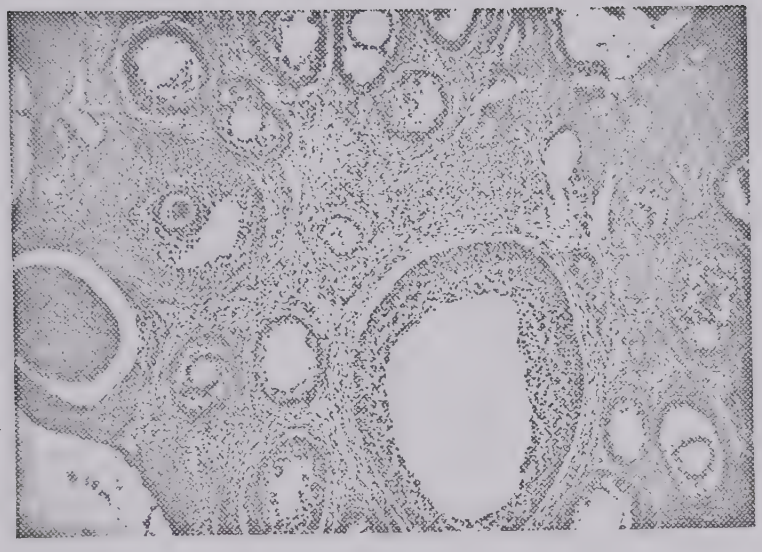


Abb.:

Ovar einer neugeborenen Ratte nach Behandlung mit Ultracorten - H in einer Konzentration von 1,2 mg/kg. Regelrecht strukturierte Follikel.
HE - Färbung, Vergrößerung 6,3 x 2 x 8.

Tabelle: Übersicht des histologisch ausgewerteten Materials nach Behandlung mit Ultracorten - H.

Konzentrationen in mg/kg	Anzahl der Organe					
	Leber		Niere		Gonaden	
	normal	pathol.	normal	pathol.	normal	pathol.
o,336	132	keine	117	keine	87	keine
o,8	235	keine	248	keine	21o	keine
1,2o	79	keine	81	keine	67	keine

5) Toxizitätsversuch mit VB 74

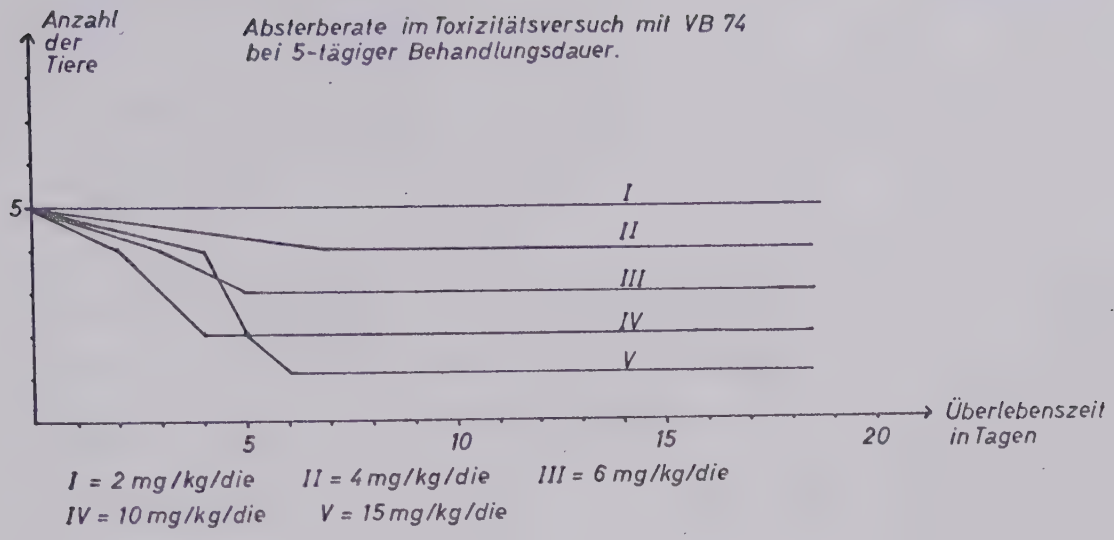
Die hochgewählte Ausgangsdosis von 15 mg/kg überlebte nur eines von den 5 benutzten Versuchstieren. Die übrigen starben zwischen dem 4. und 6. Tag nach Behandlungsbeginn und zwar 1 Tier am 4. Tag, 2 am 5. Tag und eines am 6. Tag.

Bei der nächst niedrigeren Dosis von 1o mg/kg starben 1 Tier am 2. Tag und 2 Tiere am 4. Tag nach Behandlungsbeginn.

Da unter Verwendung von 6 mg/kg 1 Tier am 3. und ein weiteres am 5. Tag nach Therapiebeginn verendeten, wäre also aus diesem und dem obigen Versuch mit 1o mg VB 74 die DL 5o bei dieser Versuchsanordnung mit etwa 8 mg anzunehmen.

Im Toxizitätsversuch mit 4 mg/kg verstarb lediglich 1 Tier am 7. Tag nach Beginn mit der intraperitonealen Verabreichung des Präparates.

Die subtoxische Dosis belief sich auf 2 mg/kg VB 74. Alle 5 Tiere überlebten den Versuch, zeigten aber ein struppiges, glanzloses Fell und mehrere Tage anhaltende Diarrhoeen.



6) Teratogeneseversuch mit VB 74

Mit der subtoxischen Dosis von 2 mg/kg wurden 5 schwangere Weibchen vom 1o. bis 14. Schwangerschaftstag behandelt. Dabei traten bei allen Tieren enorme Gewichtsstürze auf, so daß vor der Geburt eine Gewichtszunahme von 15 g im Schnitt zu verzeichnen war. Vier oder 5 behandelte Tiere hatten keine Jungen. Ein Tier hatte 3 Junge. Die maximale Zahl der Implantationen war 12, das Minimum 8, im Mittel waren 11,o Implantationen zu verzeichnen. Das Gewicht der 3 Jungen lag zwischen 4,1 und 4,3 g.

Demzufolge mußte die Dosis noch weiter reduziert werden, um ein besser verwertbares Ergebnis zu erzielen. Auch im nächsten Versuch mit 1,8 mg/kg wurden von allen 1o verwendeten

Tieren sämtliche resorbiert. Das im ersten Schwangerschaftsdrittel normal angestiegene Gewicht der Muttertiere sank in einzelnen Fällen unter den Wert des vor der Kopulation festgestellten Gewichtes. Das Maximum der Implantationen lag bei 15, das Minimum bei 8, das Mittel bei 11,3 Implantationsstellen pro Tier.

Die nun folgenden Versuche mit 1,5 mg/kg wurden in 2 Gruppen zu je 3o Tieren geteilt, welche sich bezüglich der Art der Auswertung der Jungen unterschieden. Ansonsten wurde völlig gleich vorgegangen. Es erfolgte wiederum eine 5tägige intraperitoneale Therapie beginnend am 1o. Schwangerschaftstag. Die mittlere Geburtenzahl betrug 3,75 Junge pro Tier. Das Maximum lag bei 14 Jungen pro Tier, 24 Tiere hatten alle Jungen resorbiert. Im Mittel zählten wir 11,5 Implantationsstellen, das Maximum war 16, das Minimum 8 Implantationsstellen. Die Jungen wogen im Schnitt 4,2 g. Die Gewichtszunahme der Muttertiere bis kurz vor der Geburt lag bei 51 g. Die Jungen von 3o Tieren dieser Versuchsgruppe wurden über 3o Tage p.p. beobachtet. Es ließ sich eine normale Entwicklung und ein normales Wachstum sämtlicher Jungen feststellen.

Ein Zwischenversuch mit 1,5 mg/kg, beginnend am 3. Tag der Schwangerschaft über 5 Tage erbrachte eine mittlere Wurfrate von 4,2 Jungen pro Tier. Die maximale Wurfgröße betrug 9 Junge, 2 Tiere hatten keine Jungen. Es wurden zwischen 8 und 14 Implantationsstellen beobachtet, im Mittel

waren es 11,2 Implantationsstellen pro Tier. Das Geburtsgewicht der Jungen bewegte sich um 4,8 g. Die Muttertiere hatten bis kurz vor der Geburt durchschnittlich um 62 g zugenommen.

Tabelle: Ergebnisse des Teratogeneseversuches mit VB 74 (Mittelwerte).

	Kontrolle	Konzentrationen in mg/kg			
		1,5	1,5+	1,8	2,o
Gewichtszunahme der Muttertiere	1o5 g	51 g	62 g	leichter Gewichtsverlust	15 g
Geburtsgewichte der Jungen	5,9g	4,2	4,8	-	4,2 g
Wurfgröße	12,15	3,75	4,2	O	o,6
Zahl der Implantationen	13,75	11,5	11,2	11,3	11,o

+ = Therapiebeginn verlegt in das 1. Schwangerschaftsdrittel

7) Histologie (VB 74)

Die im Versuch mit 2 mg/kg VB 74 ausgewerteten 3 neugeborenen Ratten zeigten deutliche histologische Veränderungen der Leber. Die übrigen Organe wiesen keine mikroskopischen Abweichungen von der Norm auf. In den niederen Dosierungsbereichen fanden sich mit den Kontrollschnitten übereinstimmende feingewebliche Strukturen.

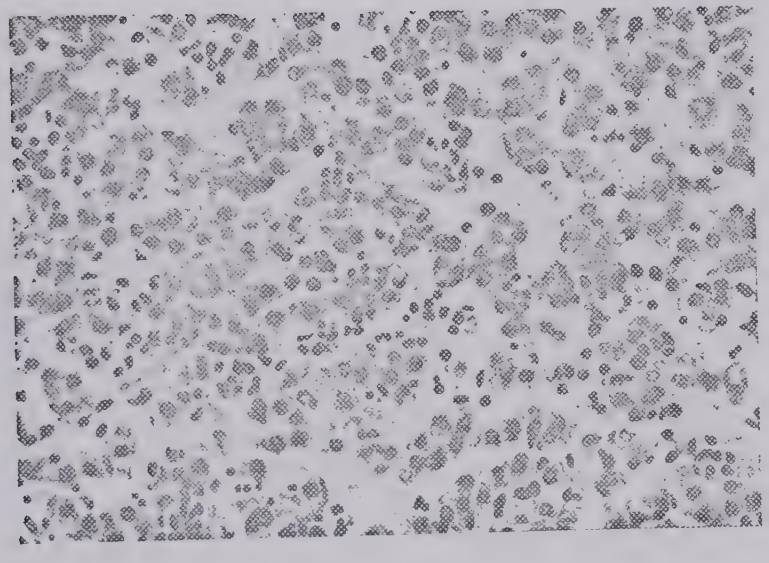
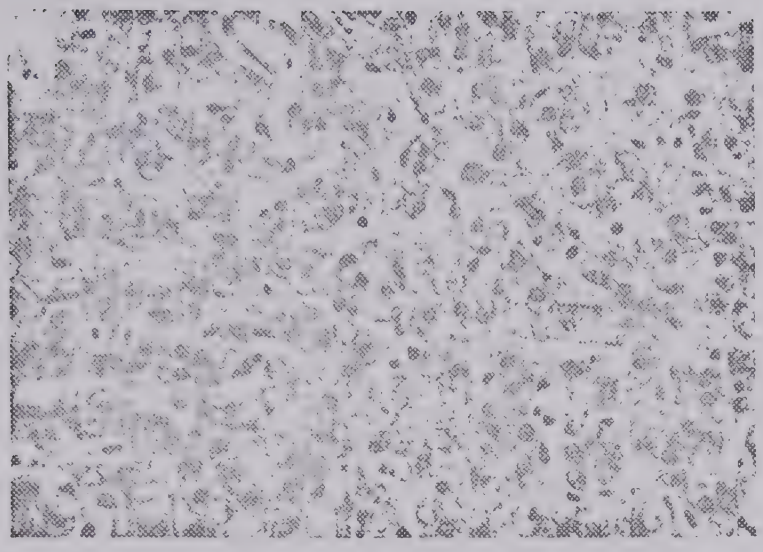


Abb.:

Regelrechtes Lebergewebe einer neugeborenen Ratte.
Reichlich Blutbildungsherde, kaum vakuolisiertes Zytoplasma.
HE - Färbung, Vergrößerung 16 x 2 x 8



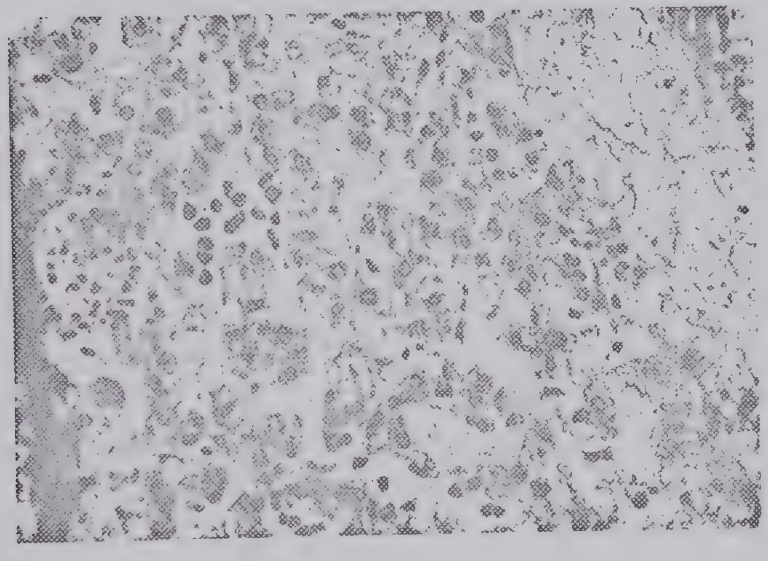


Abb.:

2 Beispiele einer toxischen Leberschädigung einer neugeborenen Ratte infolge Behandlung des Muttertieres mit VB 74 in einer Konzentration von 2 mg/kg. Es zeigt sich eine deutliche Vakuolisierung des Cytoplasmas und eine Verminderung der Blutbildungsherde.
HE - Färbung, Vergrößerung 16 x 2 x 8.

Tabelle: Übersicht des ausgewerteten histologischen Materials nach Behandlung mit VB 74

Konzentrationen in mg/kg	Anzahl der Organe					
	Leber		Niere		Gonaden	
	normal	path.	normal	path.	normal	path.
1,5	187	keine	2o4	keine	176	keine
1,8	keine Untersuchung möglich, da alle Embryonen resorbiert wurden					
2,o	3	3	3	keine	3	keine

V. DISKUSSION

In den Versuchen mit Prednisolon fand sich bei einer Konzentration von o,336 mg/kg eine um etwa 25 % verminderte Wurfzahl gegenüber den Kontrollversuchen. Die Erhöhung der täglichen Dosis auf o,8 mg/kg erbrachte ähnliche Ergebnisse. Die Versuchsreihe mit 1,2 mg/kg zeigte eine weitere Verminderung der Wurfzahlen um fast 6o % gegenüber der Norm.

Die Zahl der Implantationen änderte sich bei der von uns gewählten Versuchsanordnung nur unwesentlich bis auf eine geringgradige Abnahme im Versuch mit 1,2 mg/kg. Es besteht also eine dosisabhängige Zunahme der Resorptionszahlen bei fast konstanter Zahl der Nidationen. Eine Begründung für die gleichbleibende Nidationszahl ist eventuell darin zu suchen, daß zu Anfang der Schwangerschaft eine höhere Cortocoidtoleranz besteht als in späteren Stadien. Außerdem könnte die von uns gewählte Methode eine wesentliche Rolle spielen. Unsere Behandlungsdauer erstreckte sich über die Zeit vom 3. bis 12. Schwangerschaftstag, das Säugerei gelangt aber erst am 7. Tag nach der Befruchtung zur Implantation in den Uterus. Somit kann aufgrund unserer Versuche eine sichere Aussage über die Auswirkungen von Prednisolon, insbesondere auf die Nidation, gemacht werden. Die übrigen Versuchsparameter sind wegen ihrer einfachen Überprüfbarkeit als zuverlässige Aussagen zu werten.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse sprechen für eine tera-

togene Potenz von Prednisolon bereits vor der Nidation in der frühen Schwangerschaftsphase, obwohl wir keine makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen an neugeborenen Ratten nachweisen konnten.

Dies wird durch ähnliche Untersuchungen bestätigt. So wurden bei Menschen nach höherdosierten Gaben von Corticoiden während der Gravidität Veränderungen der Neugeborenen beobachtet, die hauptsächlich als fetaler Minderwuchs und postnatale Nebennierenrindeninsuffizienz imponieren (4, 17, 18, 29).

In anderen Fällen, wo nur kurzzeitig und unterschwellig eine Corticoidmedikation an schwangeren Patientinnen durchgeführt wurde, kam es zu keinerlei Veränderungen der Neugeborenen (13, 39, 44, 5o).

HARRIS und ROSS berichten über einen Fall, in dem es nach Cortison-Gaben in der Frühschwangerschaft zur Ausbildung einer Gaumenspalte kam (12).

Im Tierexperiment traten völlig verschiedene, speziesabhängige Resultate auf: bei bestimmten Mäusestämmen treten nach Corticoid-Behandlung während der Gravidität regelmäßig Gaumenspalten bei den Neugeborenen auf (38, 52). Eine ebenfalls hohe Rate von Gaumenspalten war bei Versuchen mit Kaninchen zu beobachten (4o, 42). Demgegenüber stehen die Ergebnisse im Teratogeneseversuch mit Ratten. Es wurden zwar reduzierte Geburtsgewichte und

verminderte Wurfzahlen gefunden, zu makroskopischen Mißbildungen kam es jedoch nicht (29).

Über die teratogenetischen Effekte verschiedener Zytostatika in der Frühschwangerschaft liegen neuere Ergebnisse vor:
FRIZ und MEY berichten über Mißbildungen des kindlichen Schädels und Frühaborte nach Anwendung von Busulfan (Myleran) und Aminopterin im ersten Schwangerschaftsdrittel (9). Multiple Mißbildungen, hauptsächlich im Bereich des knöchernen Schädels wurden beobachtet nach Anwendung von Aminopterin in abortiver Absicht im ersten Trimenon (35, 36, 49). Andere Untersucher fanden jedoch nach Anwendung von Busulfan und Vinca-Alkaloiden in der Gravidität keinerlei pathologische Veränderungen der neugeborenen Kinder (26, 43, 48, 54).

KNÖRR et al. beschreiben bei einem Krankengut von 34 Graviden, die ebenfalls mit alkylierenden Substanzen behandelt wurden, in 4 Fällen mißgebildete Kinder. Die in diesem Fall gleichzeitig durchgeführte Chromosomenanalyse ergab durchweg normale Karyotypen der Neugeborenen. Aufgrund dieser Ergebnisse ist die Forderung berechtigt, jede anfänglich unter Zytostatika-Behandlung stehende Gravidität zu unterbrechen. Besser wäre es, jede zytostatische Therapie im gebärfähigen Alter nur unter der gleichzeitigen Anwendung eines Kontrazeptivums durchzuführen (21).

Die von uns mit einem Podophyllotoxin-Präparat im 2. Schwangerschaftsdrittel an Ratten durchgeführten Versuche erbrachten neben einem dosisabhängigen Rückgang der Wurfzahl und der Neugeborenengröße Veränderungen in der feingeweblichen Organstruktur. Die bisher vorliegenden Ergebnisse sind nicht einheitlich und scheinen vor allem von Präparat zu Präparat recht unterschiedlich zu sein. Im Versuch an Ratten ab dem 13. Trächtigkeitstag verursachte Myleran eine histologisch faßbare Schädigung der Ovarien, während nach der Gabe von Trenimon kein pathologischer Befund erhoben werden konnte (15, 16, 28, 34). Da Schädigungen dieser Art erst in der postpubertären Phase verifiziert werden können, ist diesen Fällen, in denen es nach Gabe verschiedener Zytostatika während der ganzen Schwangerschaft oder in der 2. Hälfte zu völlig normal ausgebildeten Neugeborenen kam, Zurückhaltung entgegen zu bringen (7, 1o, 55).

Zweifellos besteht eine Diskrepanz zwischen den Ergebnissen im Teratogeneseexperiment und den teratogenen Effekten einzelner Substanzen am Menschen. Dennoch sollte man prinzipiell die Anwendung von Medikamenten während der Gravidität unterlassen, deren teratogene Aktivität sich an irgendeinem Versuchstier demonstriert hat (41). Das bedeutet auf die von uns untersuchten Substanzen Prednisolon und Carbamoylpodophyllotoxin bezogen, daß ihre Anwendung nur nach strengster Indikationsstellung erfolgen darf und dabei mit dem Auftreten von Keimschä-

den gerechnet werden muß. Diese aus der experimentellen Teratogenese gewonnenen Erkenntnisse werden erhärtet durch Fallbeschreibungen aus der Humanpathologie, wo es nach Anwendung derselben oder pharmakologisch verwandter Wirkstoffe zu einer auffällig erhöhten Mißbildungsrate gekommen war. Corticoide und Zytostatika werden heute allgemein als möglicherweise teratogene Agenzien während der menschlichen Gravidität angesehen (27, 53).

Die eingeschränkte Übertragbarkeit tierexperimenteller Teratologie auf den Menschen erweist sich als besonders hemmend bei der Neueinführung von Präparaten. Die einzige Möglichkeit in solchen Fällen, die Aussagekraft der vorangegangenen Tierexperimente zu überprüfen, bildet der therapeutische Einsatz während der menschlichen Gravidität. Damit bleibt das Risiko einer teratogenen Schädigung durch das einzelne Präparat zunächst bestehen; man kann aber mittels großangelegter Erfassung solcher Fälle recht genau Aufschlüsse über die Teratogenität verschiedener Medikamente erlangen. In Schweden wurde bereits mit einer generellen statistischen Erfassung aller medikamentös behandelter Graviden begonnen. Die Ergebnisse dieses großen "Humanteratologischen Experimentes" stehen noch aus (2o). Auch für die Bundesrepublik sind Bestrebungen im Gange, durch eine zentrale Auswertung aller legalen Schwangerschaftsunterbrechungen und Aborte zu ähnlichen Aussagen zu gelangen. Trotzdem bieten solche Maßnahmen, die sicherlich einen großen

Fortschritt im Bemühen zur Vermeidung medikamentös-teratogener Schädigungen darstellen, keine Sicherung vor der Gefahr erneuter medikamentös induzierter Feto-Embryo-Pathien (6, 22).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Der antiproliferative Effekt von Corticoiden und Zytostatika gab zu der vergleichenden Überprüfung eines Prednisolon- und Podophyllotoxin-Präparates bezüglich der Auswirkung auf das schnell wachsende Keimgewebe Anlaß.

Die wesentlichen Prinzipien der allgemeinen Teratologie und die Pharmakologie der Versuchspräparate werden kurz erwähnt.

Als Versuchstier wurden Ratten des Wistarstammes BD II verwendet. Die Versuchsanordnung sah, neben Kontrollversuchen und Toxizitätsprüfungen, die intraperitoneale Verabreichung des Prednisolon-Präparates vom 3. bis 12. Schwangerschaftstag und des Podophyllotoxin-Präparates vom 1o. bis 14. Schwangerschaftstag vor. Unmittelbar post partum wurden die Jungen auf makroskopische und mikroskopische Veränderungen untersucht. Die Implantationsstellen im mütterlichen Uterus wurden mit einer speziellen Färbetechnik sichtbar gemacht und ausgezählt.

Im Vergleich zur nicht schwangeren Ratte konnte bei schwangeren Tieren im Toxizitätsversuch eine etwa 3,5 mal höhere Corticoid-Toleranz ermittelt werden. Die Teratogeneseversuche mit Prednisolon ließen zwar weder makroskopische noch mikroskopische Veränderungen feststellen, zeigten jedoch eine deutlich dosisabhängige Verminderung der Wurfzahl. Das verwendete Podophyllo-

toxin-Präparat zeigte neben einer toxischen Schädigung der Neugeborenen-Leber in der höchstgewählten Dosierung ebenfalls einen dosisabhängigen Rückgang der Wurfzahl. Makroskopische Schädigungen der Jungen konnten nicht nachgewiesen werden.

Diese Befunde schließen für beide Präparate ein teratogenes Risiko nicht aus. Zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen und Fallbeschreibungen aus der Humanteratologie bestätigen unsere Versuchsergebnisse. Obwohl das Tierexperiment nicht direkt auf menschliche Verhältnisse übertragbar ist, sollte man Präparate, deren experimentell-teratogenetischer Charakter in irgendeiner Form bewiesen wurde, nur unter strengster Indikationsstellung während der Gravidität verwenden.

VII. LITERATUR

1. BEGEMANN, H. u. W. KABOTH : Nebenwirkungen der Cortisonderivate. Der Internist 8, (1967): 85 - 94

2. BOCK, H.E. : Schäden durch Nebennierenrindensteroide. Der Internist 3, (1962): 459 - 466

3. BROCK, N. u. K. WILK : Zur Ernährung der Laboratoriumstiere. 1. Mitteil.: Altromin-R eine Standard-Diät für Ratte und Maus. Arzneimittelfrsch. 11, (1961): 1o71 - 1o85

4. BUSCH, W. : Zur Problematik einer Kortikoidmedikation in der Schwangerschaft. Zbl. Gynaek. 39, (197o): 1268 - 1274

5. CERLETTI, A., STÄHELIN, H. u. J. SCHOCK : Untersuchungen mit Proresid bei verschiedenen Impftumoren. Med. Klin. 61, (1966): 1192 - 1194

6. DEGENHARDT, K.H. : Langzeittherapie und Schwangerschaft - Teratologische Aspekte. Therapiewoche 27,(1968): 1122 - 1126

7. Di PAOLO, J.A. : Teratogenetic Agents: Mammalian test systems and chemicals. Ann. of New York academy of Sciences 163, (1969): 8o1 - 812

8. DRUCKREY, H., DANNEBERG, P., DISCHLER, W. u. D. STEINHOFF : Reinzucht von 1o Rattenstämmen (BD-Stämme) und Analyse des genetischen Pigmentierungssystems. Arzneimittelfrsch. 12, (1962): 911 - 919

9. FRIZ, M. u. R. MEY : Zytostatika u. Gravidität. Dtsch.med.Wschr. 85, (196o): 931 - 932

1o. GEBHARDT, E. : Zur Gefährdung des menschlichen Erbgutes durch Chemikalien. Zschr.f.Allgemeinmed. 45, (1969): 1622 - 1628

11. HAMPERL, H. : Mißbildungen. Lehrb. d. allg. Pathologie 24, (196o): 6o

12. HARRIS, J.D.S. u. J.P. ROSS : Cortisone Therapie In Early Pregnancy: Relation To Cleft Palate. The Lancet I, (1956): 1o45 - 1o47

13. HARTL, H. : Welche Medikamente sollen in der Schwangerschaft nicht gegeben werden? Med.Klinik 56, (1961): 12o8 - 12o9

14. HECKMANN, U., HAMANN, A. u. E. JNAMOTO : Die Proliferationskinetik menschlicher Genitalkarzinome nach Einwirkung von Zytostatika und Hormonen im in-Vivo-Test. Zbl. f. Gynaekologie 91, (1969): 1o57 - 1o61

15. HELLER, R.H. u. H.W. JONES : Production of ovarian dysgenesis in the rat and human by busulfan. Amer.J.obstet.Gynec. 89, (1964): 414 - 415

16. HEMSWORTH, B.N. u. H. JACKSON : Effect of busulfan on the fetal gonad. Nature 195, (1962): 816

17. HOTTINGER, A. : Vorübergehende, passive NNR-Insuffizienz beim Neugeborenen. Schweiz.med.Wschr. 89, (1959): 419 - 422

18. HOTTINGER, A. : Risiken therapeutischer Maßnahmen für die Frucht. Schweiz.med.Wschr. 93, (1963): 2o1 - 2o2

19. KAISER, H. : Cortisonderivate in Klinik und Praxis. Bd. 4, (1965): 6 - 7

2o. KÄLLEN, B. : Malformation due to toxic influences. Acta ophthal. 48, (1968): 313 - 321

21. KNÖRR, U. et al. : Alkylierende Substanzen: Über den teratogenen Effekt. Geburtsh. u. Frauenheilk. 29, (1969): 6o1

22. KOBYLETZKI, D. von : Empfehlungen zur Klärung des Risikos der Arzneimittelbehandlung in der Frühschwangerschaft beim Menschen. Fortschr.d.Med. 87, (1969): 1 - 2

23. KOPF, R., LORENZ, D.u. E. SALEWSKI : Der Einfluß von Thalidomid auf die Fertilität von Ratten im Generationsversuch über 2 Generationen. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path. u. Pharm. 247, (1964): 121 - 135

24. KOPF, R., LORENZ, D. u. E. SALEWSKI : Der Einfluß von Thalidomid auf die Fertilität von Ratten. Nanyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path. u. Pharm. 247, (1964): 123 - 124

25. KUSCHINSKY, G. u. H. LULLMANN : Glucocorticoide. Kurzes Lehrb. d. Pharmakol. 3, (1967): 196 - 197

26. LACHER, M.J. : Use of vinblastine sulfate to treat Hodgkin's disease during pregnancy. Ann.of intern.med. 61, (1964): 113 - 115

27. LAURENCE, D.R., KISTNER, R.M. u. G.J.M. SUYER : Which drugs or hormones should not be administered during pregnancy and especially during the first three months? J.Int.Fed.Gynaec. Obstet. 1, (1963): 1 - 41

28. LIGHT, A.E. : Additional abservations on the effects of busulfan on cataract formation, duration of anaesthesia and reproduction in rats. Toxic.Appl.Pharmacol. 1o, (1967): 459 - 466

29. LOHMEYER, H. : Cortison, Schwangerschaft und Mißbildungen des Neugeborenen. Geburtsh. u. Frauenheilk. 21, (1961): 56o - 564

3o. LONG, J.A. and H.M. EVANS : The oestrus cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. University California 6, (1922): 42

31. LOOSLI, R. u. E. THEISS : Methodik und Problematik der medikamentös-experimentellen Teratogenese. Bull.schweiz.Akad.med. Wiss. 29, (1964): 398 - 416

32. LORKE, D. : Zur Methodik der Untersuchungen embryotoxischer und teratogener Wirkungen an der Ratte. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. u. Pharm. 246, (1963): 147 - 151

33. MAUSS, H.J. : Arzneimittelverbrauch in der Schwangerschaft nach Aufklärung der Thalidomid-Embryopathie. Dtsch.med.Wschr. 89, (1964): 38o - 383

34. MAUSS, H.J. : Fehlbildungen an den fetalen Ovarien im Tierexperiment nach cytostatischer Einwirkung. Arch.f.Gynaekol. 198, (1963): 394 - 397

35. MILUNSKY, A., GRAEF, J.W. u. M.F. GAYNOR : Methotrexat-induced congenital malformations. J. Pediat. 72, (1968): 79o - 795

36. MURPHY, M.L., MORO, A.D. u. C. LACON : The comparative effects of five polyfunctional alkylating agents on the chick embryo. Ann. of New York academy of siences 68, (1958): 762 - 781

37. OBERDISSE, K. : Die Therapie mit Glucocorticoiden. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp.Path. u. Pharmakol. 241, (1962): 1o6 - 117

38. PINSKY, L., DiGEORGE, A.M. : Cleft palate in the mouse: a teratogenetic index of glucocorticoid potency. Science 147, (1965): 4o2 - 4o5

39. PREISLER, O. : Ist eine langdauernde Cortisonbehandlung in der Schwangerschaft für das Kind schädlich? Zbl. Gynaek. 82, (196o): 657 - 659

4o. ROSEN, F., C.A. NICHOL : Corticosteroids and enzyme activity. Vitam.and Horm. 21, (1964): 135 - 214

41. ROSENBAUER, K.A. : Zur Frage der Übertragbarkeit teratogenetischer Tierexperimente auf den Menschen und zur Vorausschaubarkeit von Arzneimittelkatastrophen. Arzneimittelforsch. 16, (1966): 1563 - 157o

42. ROSENBAUER, K.A. : Angeborene Fehl- und Mißbildungen durch Medikamente. Aesthet.Med. 13, (1964): 299 - 325

43. ROSENZWEIG, A., CREWS, Q. u. H. HOPWOOD : Vinblastine sulfate in Hodgkin's disease in pregnancy. Ann. intern. Medicine 61, (1964): 1o8 - 112

44. SIEBERT, G. : Prednisolon in der Gravidität. Med.klin. 54, (1959): 2239

45. STÄHELIN, H. u. A. CERLETTI : Experimentelle Ergebnisse mit den Podophyllin Cytostatika SP-G u. SP-J. Schweiz.med.Wschr. 94, (1964): 149o - 15o2

46. STOCKHAUSEN, J. : Ärzteschaft und Arzneimittelsicherheit. Dtsch.Ärztebl. - Ärztl. Mitteil. 66, (1969): 1429 - 1435

47. STUM, A., BODECHTEL, G., HEILMEYER, L. u. E. SCHLEGEL : Mitteilung des Vorstandes der deutschen Gesellschaft für innere Medizin zur Aufstellung von Richtlinien für die klinische Prüfung von Arzneimitteln. Klin.Wschr. 43, (1965): 698 - 7oo

48. STUTZMAN, L. u. J. SOKAL : Use of anticancer drugs during pregnancy. Clin.obst.gynecol. 11, (1968): 416 - 427

49. THIERSCH, J.B. : Therapeutic abortions with folicacid antagonist 4-aminopteroyl glutomine acid administered by oral route. Amer.J.obstet.Gynec. 63, (1952): 1298 - 1325

5o. TIETZE, K. : Die Behandlung früher Schwangerschaftsbeschwerden mit Prednisolon. Med.Klin. 54, (1959): 1559 - 1561

51. UHL, N.P., EBERLE, P., QUELLHORST, E., SCHMIDT, R. u. W. HUNSTEIN : Myleranbehandlung in der Schwangerschaft. Dtsch.med.Wschr. 93, (1968): 1856 - 1858

52. WALKER, B.E. : Cleft palate produced in mice by human-equivalent dosage with triaminolone. Science 149, (1965): 862 - 863

53. WEICKER, H. : Teratogene Substanzen. Med.Klin. 58, (1963): 2032 - 2037

54. WILLIAMS, D.W. : Busulfan in early pregnancy. Obstet.Gynecol. 27, (1966): 738 - 740

55. ZIPPER, J., MEDEL, M. u. R. PRAGER : Alterations in fertility induced by unilateral intrauterine instillation of cytotoxic compounds in rats. Am.J.obstet. gynecol. 101, (1968): 971 - 978

Herrn Professor Dr. med. H. LIMBURG und Herrn Privatdozent Dr. med. U. HECKMANN danke ich bestens für die Überlassung des Themas und die mir gewährte Hilfe.

Ebenso möchte ich mich bei Herrn Oberarzt Dr. med. H. SEELIGER für die Unterstützung bei der Auswertung des histologischen Materials bedanken.

LEBENSLAUF

Am 2. 5. 1943 wurde ich, Hermann STEEB, in Schwäbisch Gmünd geboren. Im Jahre 1962 legte ich am Parler Gymnasium in Schwäbisch Gmünd die Reifeprüfung ab. An der Medizinischen Fakultät der Universität Heidelberg bestand ich 1963 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und 1965 die ärztliche Vorprüfung. Nach 1 klinischen Semester in Heidelberg und Innsbruck setzte ich mein Studium an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes in Homburg fort. Dort legte ich 1968 das Staatsexamen ab.

Bis zum April 197o arbeitete ich als Medizinalassistent auf der Inneren und Chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Ottweiler. Nach weiteren 4 Monaten als Assistent der Inneren Abteilung des Kreiskrankenhauses Ottweiler wechselte ich an die Medizinische Klinik III der Universität des Saarlandes in Homburg/Saar über, wo ich auch jetzt noch als Assistenzarzt beschäftigt bin.